

Afdeling Microbiologie

RAPPORT 86106

Onderwerp: Conservering van
boerderijmelk.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofd, directie DLO, directie VKA,
afdeling Microbiologie (5x), bibliotheek (2x),
projektbeheer, coördinator Dierlijke Productie,
dr ir J. Stadhouders, ing. C.J. Klijn, Commissie van Advies
van het Centraal Orgaan voor Melkhygiëne (15x).

RAPPORT 86106

Projekt: Niveaucontrole op de laboratoria van het Centraal Orgaan
voor Melkhygiëne.

Onderwerp: Conservering van boerderijmelk.

Bijlagen:

Doel:

Een onderzoek naar de mogelijkheden om boerderijmelk enige dagen te conserveren, om zo mogelijkheden te scheppen een herhalingsonderzoek van een totaal kiemgetal verantwoord uit te voeren.

Samenvatting:

Een 10-tal tankmelkmonsters, met een verwacht kiemgetal van ca 10^5 /ml, werden verdeeld in porties van 10 ml. Een deel van deze submonsters werd geconserveerd met boorzuur/glycerol, een deel met natrium-azide/chlooramphenicol en een deel werd niet geconserveerd. Gedurende 7 dagen werd het totaal kiemgetal bepaald. Tot het moment van onderzoek werden alle monsters bij 2°C bewaard.

Conclusie:

De gebruikte conserveermiddelen zijn geschikt om boerderijmelk redelijk goed te conserveren, gedurende enige dagen. Het kiemgetal van ongeconserveerde boerderijmelk stijgt snel na 24 uur bewaren bij 2°C .

Verantwoordelijk : N.J.G. Broex

Samenstellers/medewerkers: N.J.G. Broex, A.A.M. Groenen AG.

Projectleider : N.J.G. Broex

1. Inleiding

De behoefte aan een mogelijkheid tot conservering van boerderijmelk is aanwezig om in geval van twijfel of bij overschrijding van een bepaald kiemgetal, dit onderzoek nogmaals te herhalen. Uit de literatuur (1,2) en onderzoek (3,4) is bekend, dat conservering mogelijk is. Maar de tijd is nog te kort om enige praktische waarde te hebben voor de kwaliteitscontrole van boerderijmelk.

Uit het eerder uitgevoerde oriënterende onderzoek (3) was gebleken, dat een combinatie temperatuur van 2°C en conserveermiddel een langere houdbaarheid mogelijk maakte. Maar de concentratie van het gekozen conserveermiddel was voor een aantal micro-organismen te groot. Een vermindering van de concentratie boorzuur/glycerol en het onderzoek van De Grootte (4) was aanleiding om dit onderzoek nogmaals uit te voeren.

Ook deze keer werd gekozen voor een bewaarperiode van 7 dagen en een bewaartemperatuur van $+2^{\circ}\text{C}$.

2. Materiaal

Door het Melkcontrolestation Oost-Nederland werden tankmelkmonsters geleverd, waarvan de kans groot was, dat het kiemgetal 10^5 à 10^6 per ml zou bedragen.

Op dag van ontvangst werden de melkmonsters (tankmelk van 6 melkmalen) zorgvuldig gemengd en in voldoende porties van elk 10 ml aseptisch afgevuld.

Een deel werd geconserveerd met boorzuur/glycerol, concentratie 1/4 van in literatuur (1) beschreven. Een deel werd geconserveerd met natriumazide/chlooramphenicol, concentratie als in literatuur (2) beschreven en een derde deel werd ongeconserveerd bewaard.

Onmiddellijk ($t=0$) na afvullen en toevoegen van de resp. conserveermiddelen werd kiemgetal 30°C bepaald. Vervolgens werd steeds na 24 uur tot 144 uur na afvullen het kiemgetal bepaald.

($t=144$ uur is 216 uur, 9 dagen, na eerste melkmaal!)

Tot het moment van onderzoek werden de monsters bewaard op smeltend ijs in een koelcel van 2°C .

3. Conservering

3.1 Boorzuur	5.0 g
Glycerol	1.0 g
Water	100 ml

Per 10 ml melk, 0,5 ml van deze oplossing toevoegen.

3.2 Natriumazide	0.6 g
Chlooramphenicol	25 mg
Water	100 ml

Per 10 ml melk, 0,2 ml van deze oplossing toevoegen.

4. Bepaling

Op de tijdstippen 0, 24, 48, 72, 96, 120 en 144 uur na ontvangst van de monsters werd met de zg. gietplaat methode het kiemgetal bepaald in de geconserveerde en de niet geconserveerde monsters.

Gebruikt medium	PCAM
Incubatie	3 dagen 30 °C.

5. Morfologie

De kolonies werden globaal morfologisch beoordeeld.

6. Resultaten

De log kiemgetallen van alle onderzochte monsters staan weergegeven in tabel 1. Deze zijn per monster grafisch weergegeven in de grafieken 1 t/m 10.

Het gemiddelde log kiemgetal van deze monsters is grafisch weergegeven in grafiek 11.

7. Discussie

- Uit de resultaten blijkt, dat tankmelk gedurende 3 dagen goed te conserveren is met boorzuur/glycerol of natriumazide/chlooramphenicol en bewaard worden bij 2 °C.

- Tankmelk langer bewaren dan 60 uur na de eerste melkmaal is niet verantwoord. Uit dit onderzoek en het eerdere onderzoek (4) blijkt duidelijk een stijging van het kiemgetal na 60 uur na de eerste melkmaal.
- Een beperkt oriënterend praktijkonderzoek is wenselijk om de praktische bruikbaarheid hiervan te toetsen.

8. Literatuur

1. Proceedings of the symposium on the purchase of milk in a quality basis.
Tegniese mededeling no. 188. Republiek van Zuid-Afrika.
2. M. Rapp und S. Münch.
Neuentwicklung von flüssigen Konservierungsmitteln für Milchproben.
Deutsche Molkerei-Zeitung 39/1984.
3. J.H.F. de Groote. Melkunie Holland.
Posterpresentatie microbiologische vereniging.
4. RIKILT-rapport 85.62.

Tabel 1

Overzicht van het log kiemgetal, per monster, na bewaren bij 2°C.

Monster nr.	Conserveermiddel	Bewaartijd in uren						
		0	24	48	72	96	120	144
1	-	5.7	6.0	6.0	6.7	6.4	6.3	6.6
2	-	5.2	5.4	5.2	5.8	6.4	6.0	6.7
3	-	5.7	5.1	6.3	7.0	6.8	6.0	7.0
4	-	4.5	5.2	5.0	5.8	6.1	5.5	6.6
5	-	4.6	5.3	5.7	6.5	6.6	6.4	7.2
6	-	7.1	5.7	6.1	6.6	6.5	6.3	7.0
7	-	4.7	5.4	6.1	6.8	6.9	6.3	6.8
8	-	4.4	5.0	5.0	6.2	6.5	6.5	6.0
9	-	4.9	5.4	5.9	6.7	6.7	6.0	6.7
10	-	5.4	5.5	5.7	6.5	6.4	6.6	6.9
Gemiddeld log kg		5.2	5.4	5.7	6.5	6.5	6.2	6.8
1	boorzuur/glycerol	5.5	5.7	5.5	5.6	5.3	5.5	5.6
2	"	5.0	5.2	5.0	5.2	5.0	4.9	4.9
3	"	5.6	5.7	5.8	5.7	5.5	4.5	5.8
4	"	4.5	4.4	4.3	4.5	4.1	4.0	4.3
5	"	4.8	4.6	3.6	4.6	4.4	4.1	4.7
6	"	5.1	5.0	4.3	5.3	4.7	3.7	4.3
7	"	4.6	4.7	4.6	4.7	4.3	4.1	5.0
8	"	4.2	4.4	4.3	4.5	4.0	3.7	4.7
9	"	5.0	4.8	4.8	4.7	4.5	4.3	4.9
10	"	5.5	4.6	5.6	5.3	5.0	4.9	5.1
Gemiddelde log kg		5.0	4.9	4.8	5.0	4.7	4.4	4.9
1	natriumazide/chlooramph.	5.5	4.6	5.5	5.5	5.2	5.4	5.4
2	"	5.3	5.1	5.0	5.0	5.0	4.9	5.0
3	"	5.9	5.4	5.4	5.3	4.8	5.1	4.7
4	"	4.5	4.4	4.4	4.2	3.9	4.0	4.0
5	"	4.7	4.7	4.3	4.4	4.3	4.1	4.3
6	"	5.6	4.3	4.3	5.1	4.9	4.9	5.0
7	"	5.0	5.0	4.6	4.5	4.3	4.1	4.5
8	"	4.4	4.2	4.2	4.2	3.9	4.0	4.1
9	"	5.1	4.8	4.7	4.7	4.4	4.6	4.8
10	"	5.6	5.5	5.3	5.4	5.3	5.0	5.3
Gemiddelde log kg		5.2	4.8	4.8	4.8	4.6	4.6	4.7

Proefopzet

Vervolg onderzoek conservering boerderijmelk.

1. Doel

Onderzoek naar de mogelijkheid om boerderijmelkmonsters voor bacteriologisch onderzoek te conserveren.

Nagaan of boerderijmelkmonsters bestemd voor bacteriologisch onderzoek met behulp van toevoeging van een mengsel van boorzuur/glycerol of een mengsel van natriumazide/chlooramphenicol en een temperatuurbeheersing op $< 2^{\circ}\text{C}$ meerdere dagen (6) te conserveren zijn, zodat regulier kiemgetalonderzoek mogelijk blijft.

2. Onderzoek

Melkcontrolestation Oost-Nederland levert 10 à 15 tankmonsters, waarvan de kans groot is een redelijk hoog kiemgetal (10^5 à 10^6 /ml) te hebben, op laboratorium microbiologie van het RIKILT.

Na ontvangst van de monsters wordt elk monster aseptisch verdeeld in 18 porties van elk ca. 10 ml in steriele buisjes. Te weten 6 met conserveermiddel boorzuur/glycerol, 6 met conserveermiddel natriumazide/-CAP en 6 zonder conserveermiddel. Deze porties (10x18) worden bewaard op smeltend ijs bij $t < 2^{\circ}\text{C}$.

Op de dag van ontvangst wordt van ieder oorspronkelijk monster het begin kiemgetal bepaald.

Op de zes opeenvolgende dagen wordt van de submonsters met en zonder conserveermiddelen het kiemgetal bepaald.

3. Conserveermiddelen

3.1	Boorzuur	12,5	g
	Glycerol	2,5	g
	Water	250	ml

Per 10 ml melk 0,5 van deze oplossing toevoegen.

3.2	Natriumazide	0,6	g
	CAP	25	mg
	Water	100	ml

Per 10 ml melk 0,2 ml van deze oplossing toevoegen.

4. Methode van onderzoek

Monstervoorbehandeling:

Na bewaren bij $t \leq 2^{\circ}\text{C}$ wordt elk monster zorgvuldig gemengd en vervolgens het kiemgetal bepaald.

Gietplaatmethode, 3 cl. incuberen bij 30°C .

Verdunningen 10^{-3} en 10^{-4} .

5. Beoordeling

Per ingezette serie aantal kve tellen en een globale beschrijving van de kolonies geven.

6. Literatuur

6.1 Proceedings of the symposium on the purchase of milk in a quality basis. Tegniese mededeling no.188. Republiek van Zuid-Afrika.

6.2 Neuentwicklung von flüssigen Konservierungsmitteln für Milchproben. Margarete Rapp und S. Münch. DM 2. 39 (1984) 1264-1272.

7. Tijdschema

Dag 0 Monsters nemen, afleveren op RIKILT en kiemgetalbepaling inzetten en aseptisch afvullen in submonsters.

Dag 1 Kiemgetalbepaling na 24 uur

Dag 2 " 48 uur

Dag 3 " 72 uur

Dag 4 " 96 uur

Dag 5 " 104 uur

Dag 6 " 144 uur

1986-06-03

N.J.G. Broex

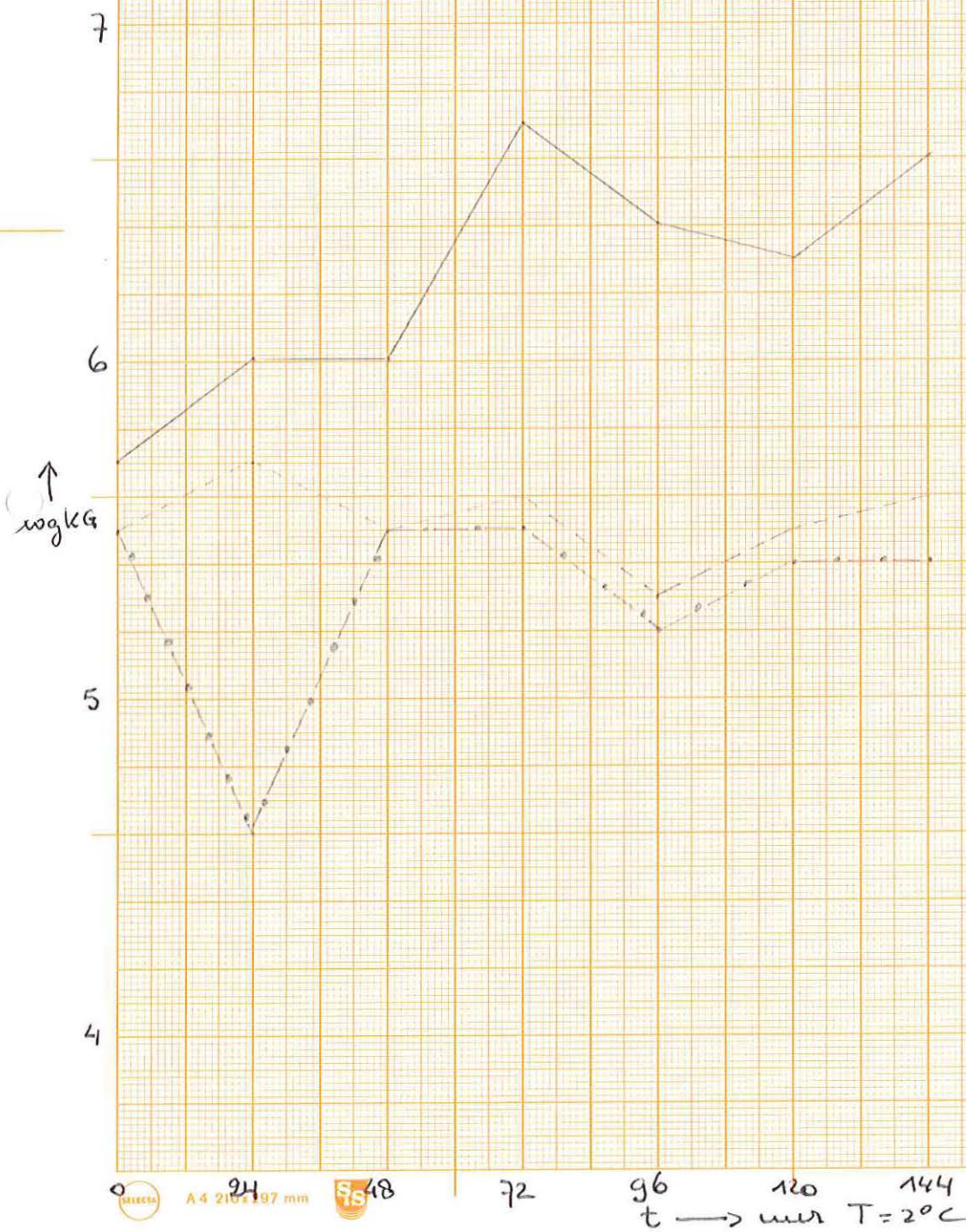
Grafiek 1

Monster ①

ongeconserveerd

boornuur / glycerol

natruumarside / chloramph.



Grafiek 2

Monster ②

ongeconserveerd

boorzuur / glycerol

natriumazide / chloroamph.

↑
log K_G

7

6

5

4



A 4 210 x 297 mm



72

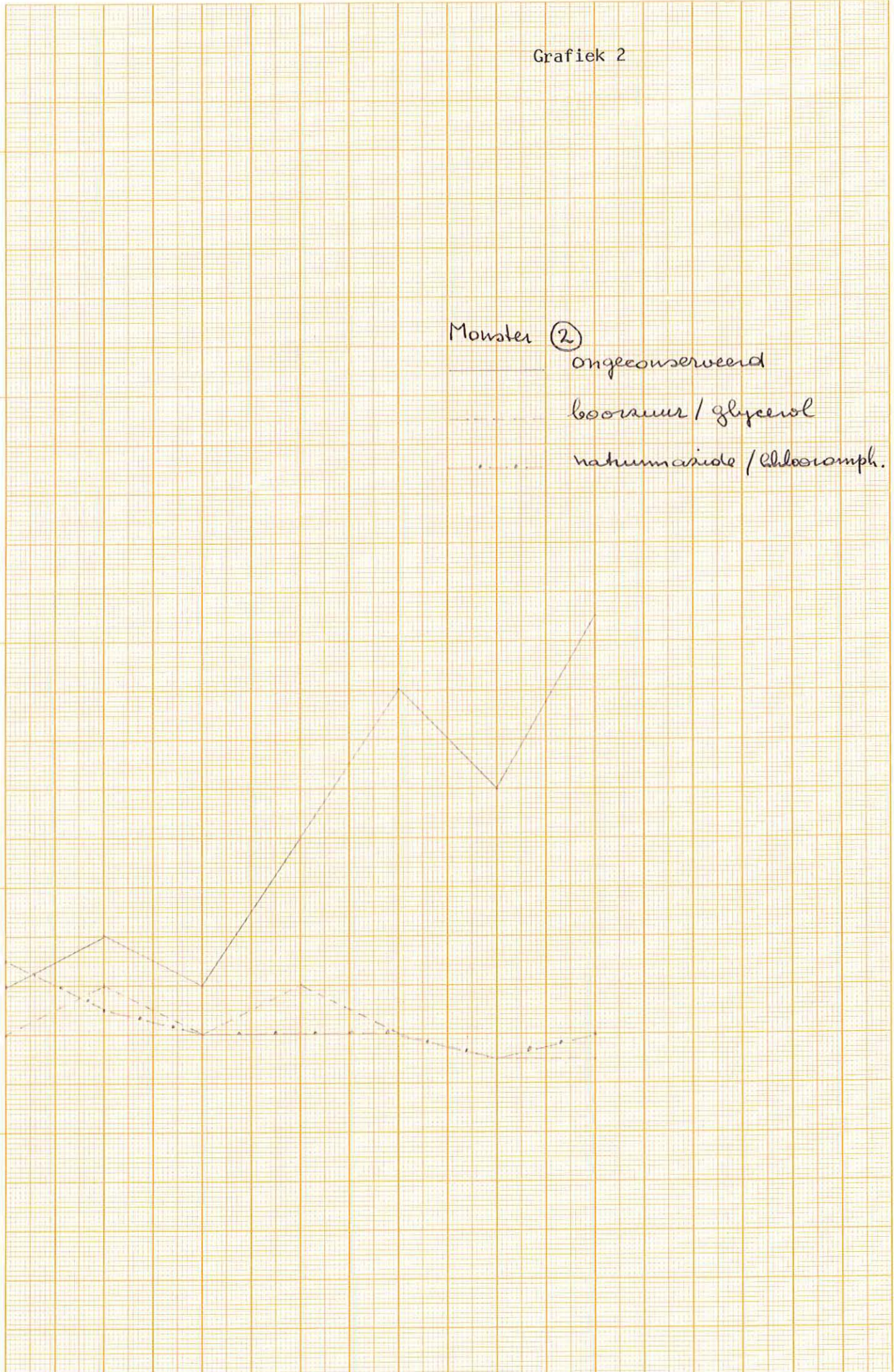
96

120

144

t → uur. T = 20°C

MADE IN GERMANY



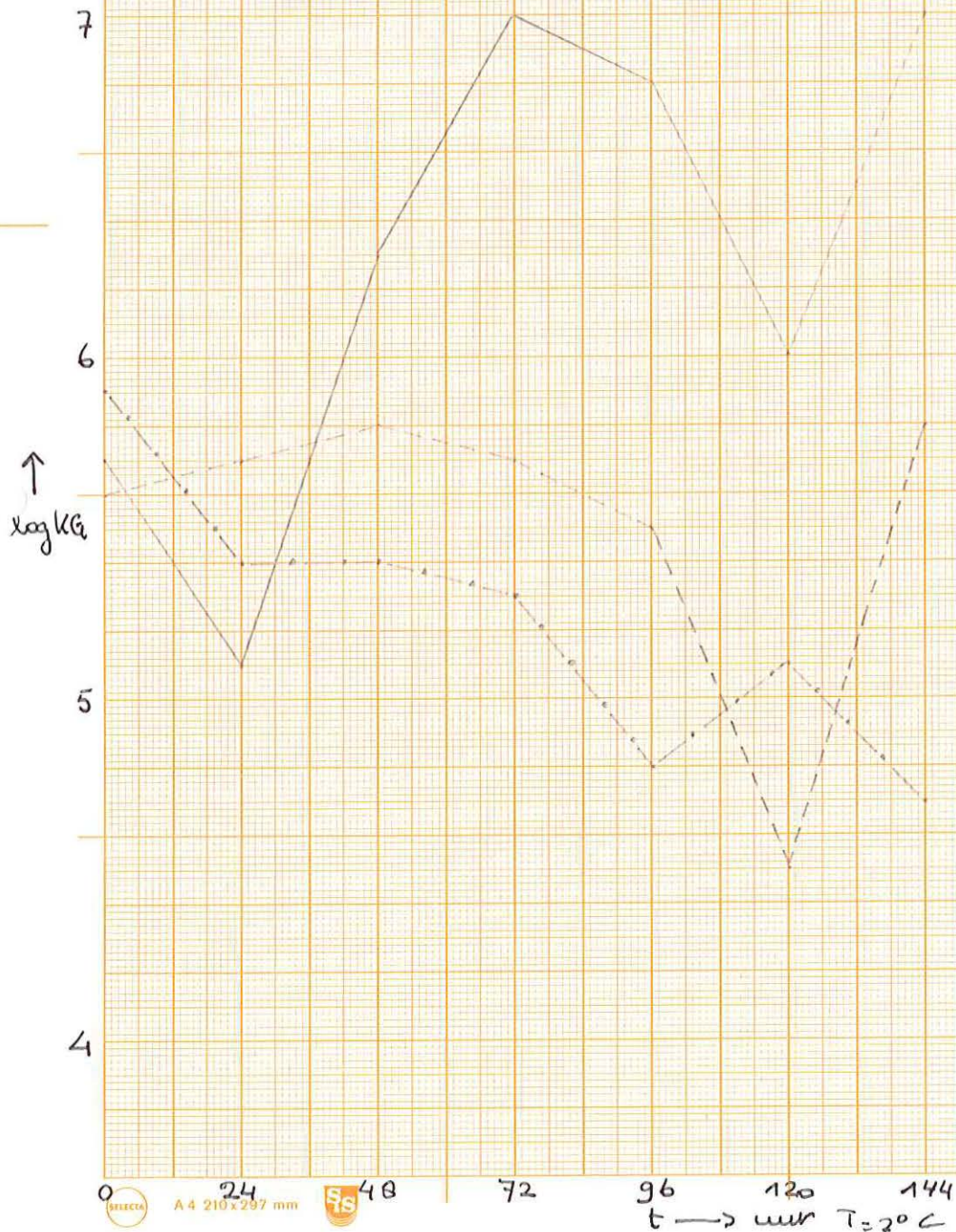
Grafiek 3

Monster ③

ongecouserveerd

boorsuur / glycerol

natriumazide / chloramph.



Grafiek 4

Monster (4)

ongecourseerd

boorzuur / glycerol

natriumazide / chlooramph.

↑
log K_G

7

6

5

4

0

24

48

72

96

120

144

t → uur T = 20°C

MADE IN GERMANY

A 4 210 x 297 mm

Grafiek 5

MONSTER ⑤

ongecoursuwend

boormuur / glycerol

natuimassie / chloroform.

↑
log KG

7

6

5

4



A 4 210 x 297 mm



48

72

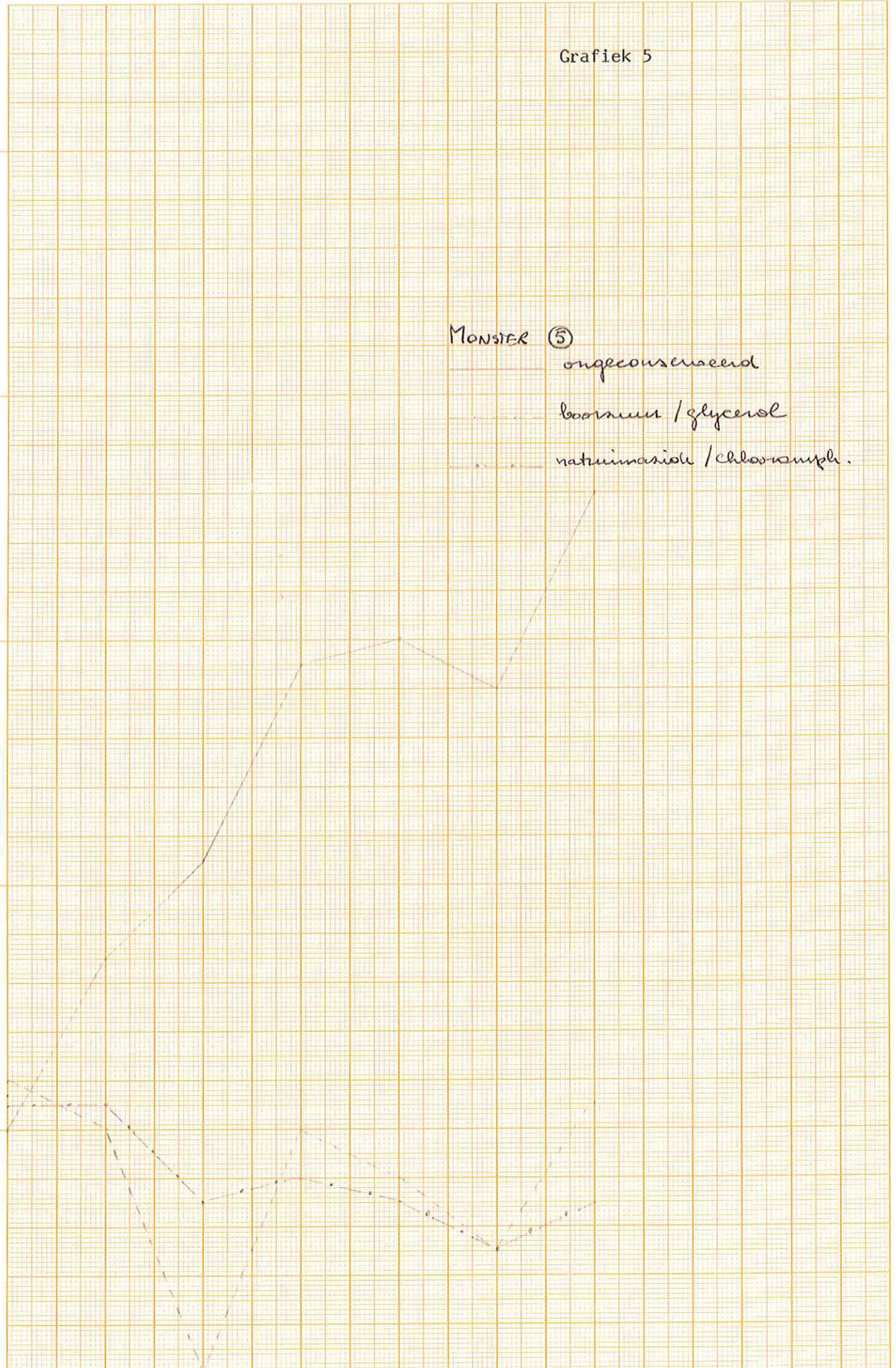
96

120

144

MADE IN GERMANY

t → uur T = 20°C



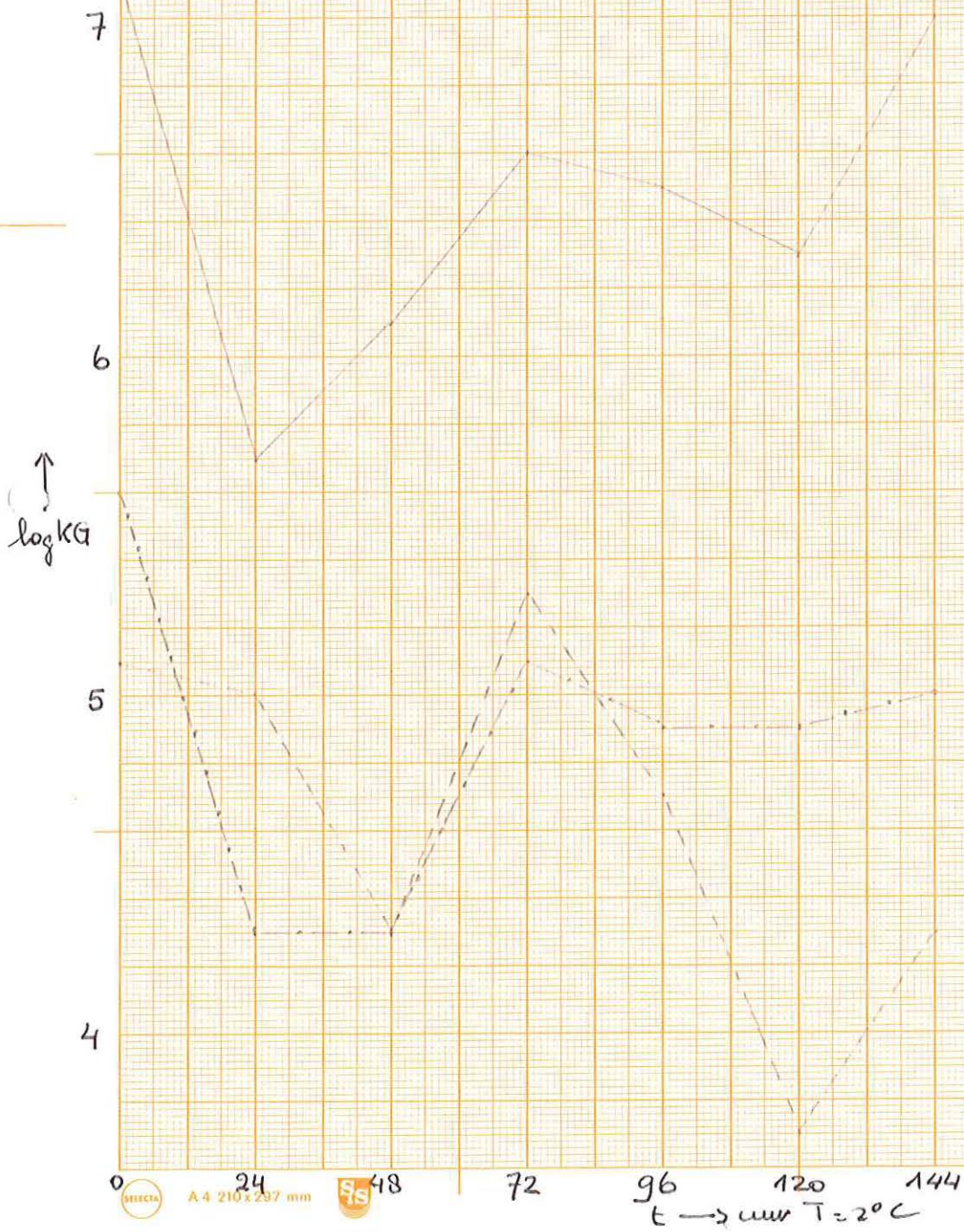
Grafiek 6

Monster ⑥

ongecourseerd

boormer / glycerol

natiumoxide / chloramph.



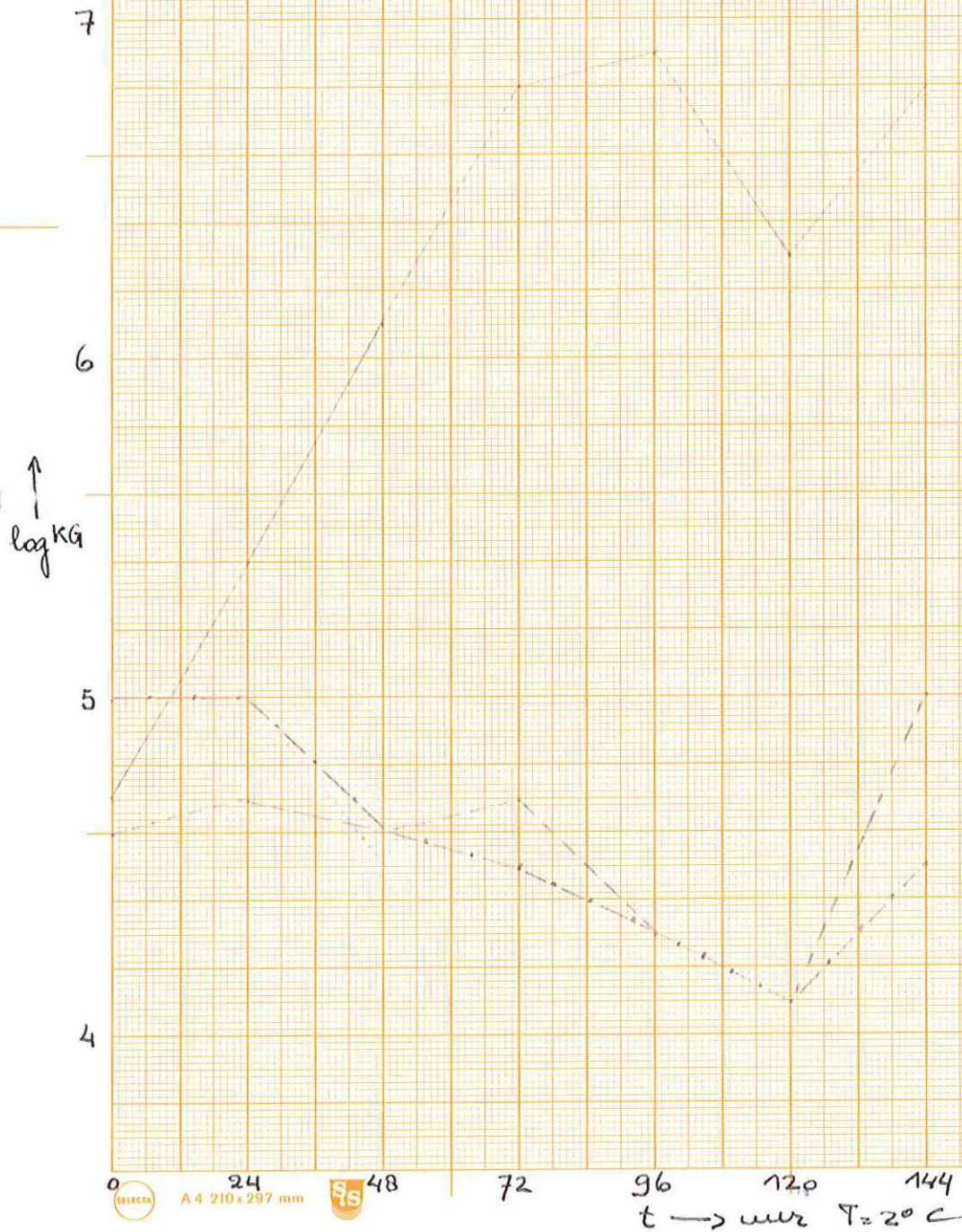
Grafiek 7

Monster ⑦

ongecourseerd

boorsuur / glycerol

natuimazide / chloorsuph.



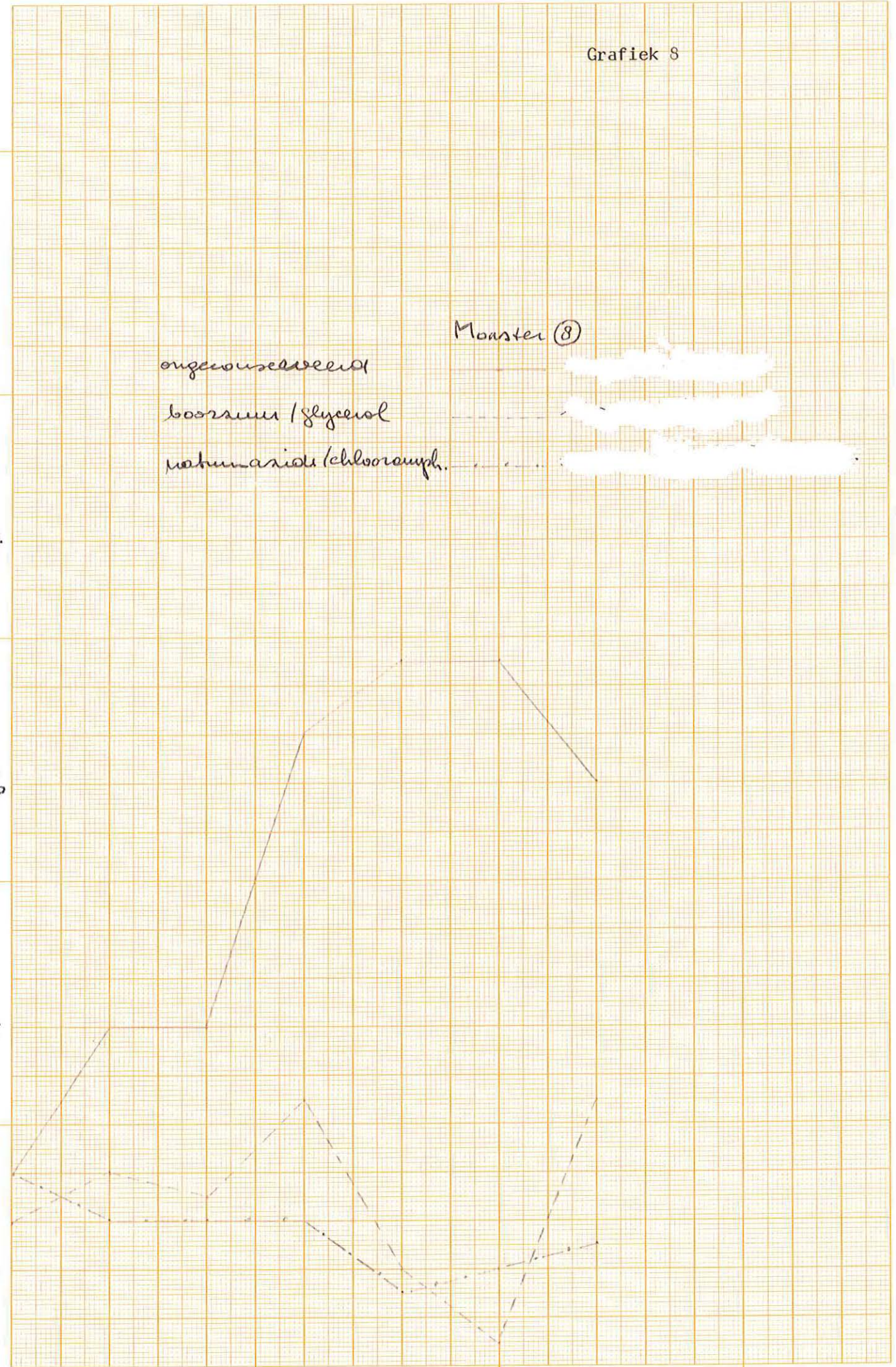
Monster (8)

ongecourseerde

boorruur / glycerol

natumaxide / chloramph.

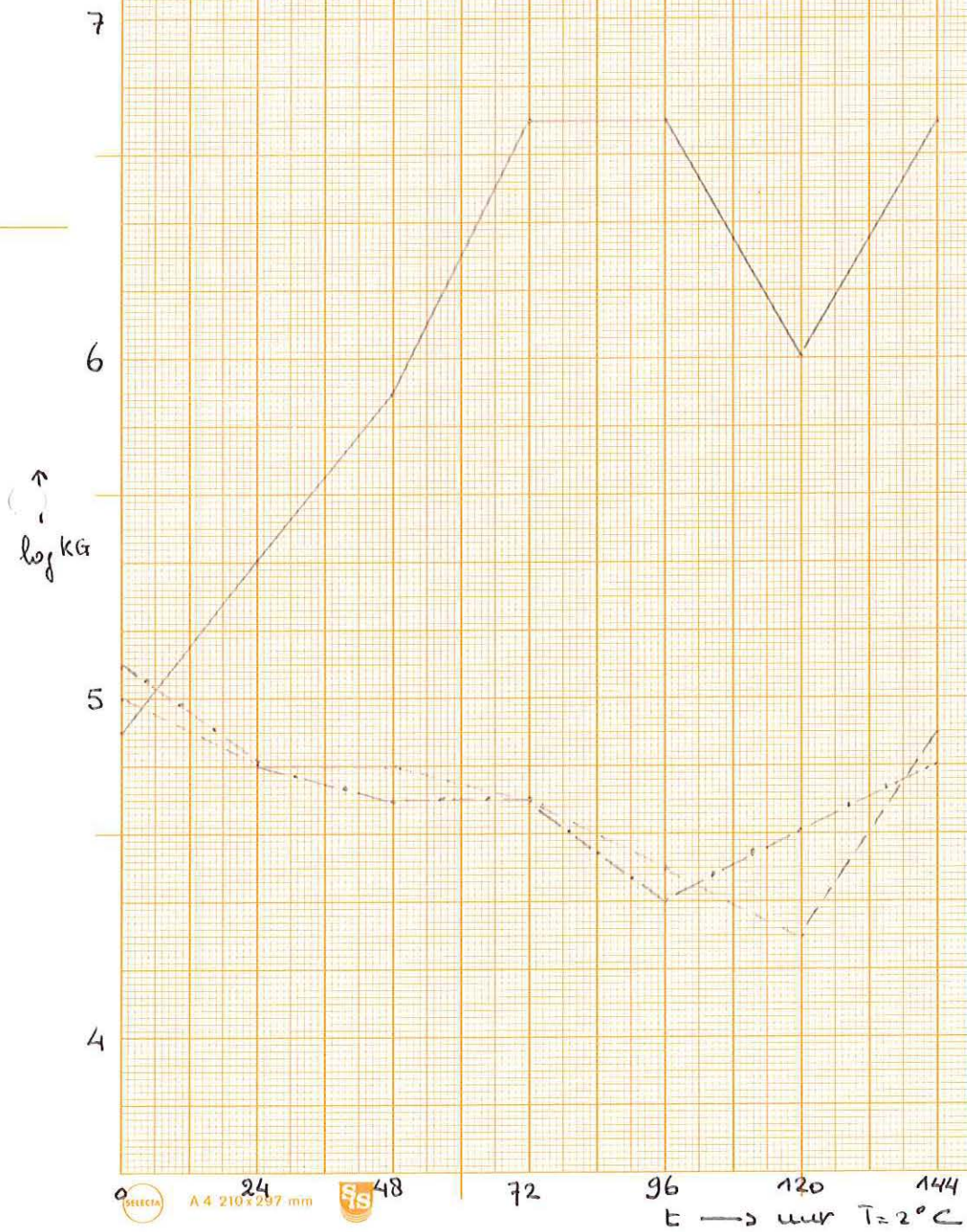
↑
log KG
7
6
5
4



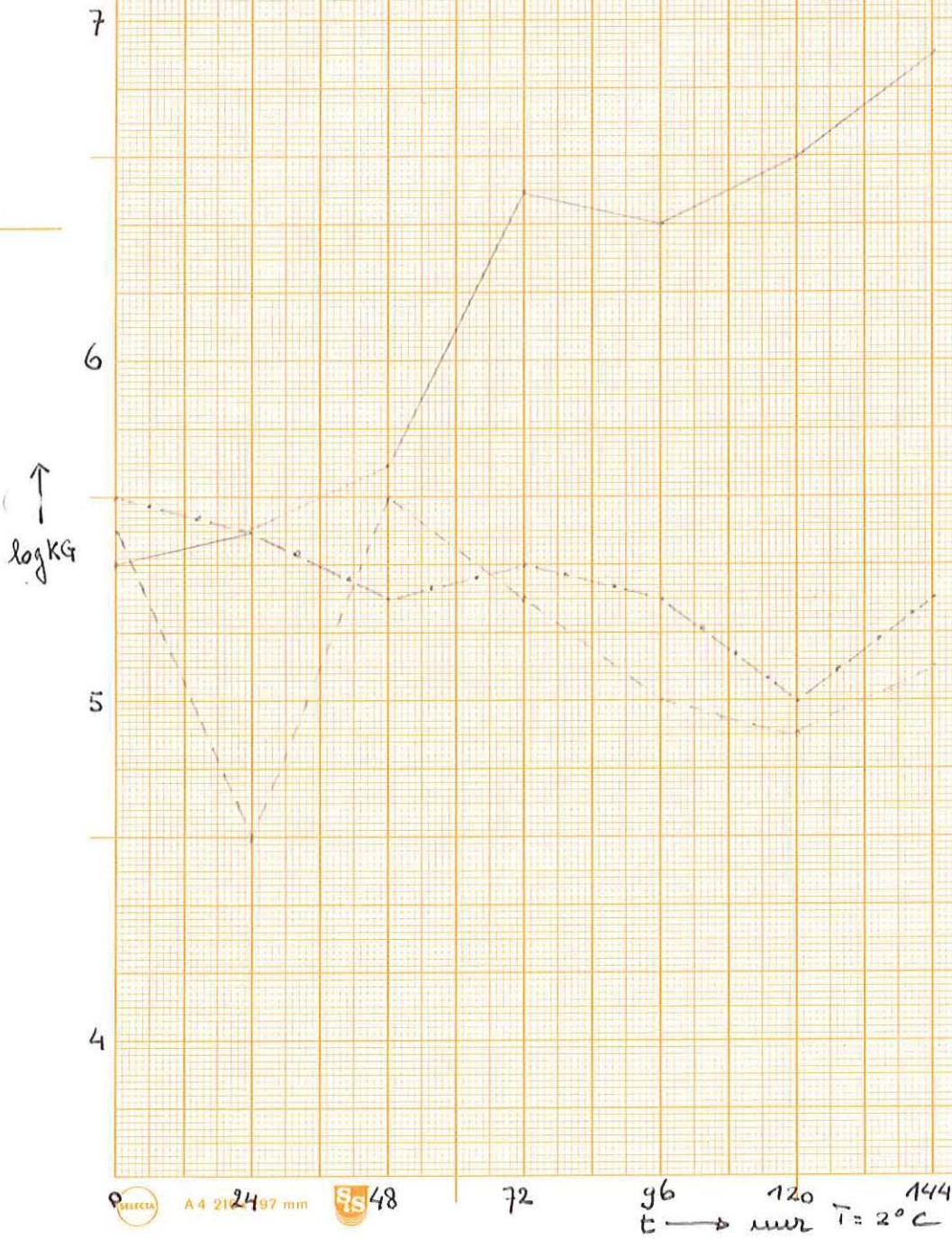
Grafiek 9

ongeconserveerd
 boorzuur / glycerol
 natriumazide / chloramph

MONSTER (g)



Monster 10
 ongeoseweerd
 boorseur/glycerol
 natuinaide/chlooromph.



\bar{x} $n=10$
 ongezoutene eend
 boorsuur / glycerol
 notuinaside / chloramph.

